不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨骼钙磷代谢的影响

王德海[1]　杨维仁[1*]　郭宝林[2]　张崇玉[1]　郭文文[1]　王志恒[1]　张天荣[3]　赵丽芳[2]

（1.山东农业大学动物科技学院，泰安 271081；2.北京昕大洋科技发展有限公司，北京 100081；3.临沂新程金锣牧业有限公司，临沂 276402）

摘　要：本试验旨在研究不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨骼钙磷代谢的影响。试验选用 192 头初重（9.12±0.29） kg、健康状况良好的“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪，随机分为 6 组，每组 4 个重复，每个重复 8 头。对照组饲喂基础饲粮（磷为 6.00 g/kg）；试验组在基础饲粮中添加 750 U/kg 的植酸酶，无机磷添加量为分别对照组的 100%、75%、50%、25%和 0（钙磷比为 1.17~1.79）。试验期 35 d。在加植酸酶的条件下，降低无机磷的添加量，胫骨和跖骨的钙磷及灰分含量以及肋骨磷含量降低且呈线性和二次相关（$P<0.05$）；血清成纤维细胞生长因子（FGF23）含量以及骨合成生化指标骨钙蛋白（BGP）、护骨素（OPG）含量和骨特异性碱性磷酸酶（BAP）活性降低且呈线性和二次相关（$P<0.05$）；血清降钙素（CT）含量，骨吸收生化指标Ⅰ型胶原 C 端肽（CTX-Ⅰ）、骨桥蛋白（OPN）含量，抗酒石酸酸性磷酸酶（TRACP-5b）以及 1,25－二羟维生素 D_3[l,25-$(OH)_2D_3$]活性升高且呈线性和二次相关（$P<0.05$）。无机磷水平为 75%的加植酸酶组与对照组相比，骨钙磷及灰分含量、骨合成生化指标、骨吸收生化指标差异不显著（$P>0.05$）；无机磷水平为 50%的加植酸酶组与对照组相比，骨灰分含量、骨合成生化指标差异不显著（$P>0.05$），骨吸收生化指标显著升高（$P<0.05$）。与对照组相比，上述 2 组血清 l,25-$(OH)_2D_3$ 活性、CT 含量显著升高（$P<0.05$），FGF23 含量显著降低（$P<0.05$）。综上所述，在加植酸酶的条件下，胫骨和跖骨的钙磷和灰分含量以及肋骨磷含量与无机磷的添加量呈线性和二次相关；骨代谢激素及骨代谢生化指标能准确反映骨代谢状况，且比常规指标更敏感。综合各项指标，在断奶仔猪饲粮中添加植酸酶可以替代 25%（0.52 g/kg）的无机磷添加量。

关键词：断奶仔猪；磷；植酸酶；骨骼；骨代谢生化指标

中图分类号：S816　　文献标识码：A　　文章编号：1006-267X（2016）00-0000-00

磷和钙是动物体内必需的矿物元素。与钙相比，磷的摄入量更能影响骨骼的发育和代谢[1]，其缺乏会引起动物肢蹄病的增加[2]，但过量的磷添加会增加饲料成本以及磷排放造成对环境的污染[3]。为了提高饲粮中磷的利用率，植酸酶在饲料生产中被广泛应用[4-5]。活体屠宰评价动物骨骼性能的方法代价太高，而骨代谢标志物能反映动物钙磷营养状况[6]，为我们

收稿日期：2015－12－16

基金项目：山东省现代农业产业技术体系生猪创新团队建设项目（SDAIT-06-022-05）

作者简介：王德海（1989－），男，山东德州人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail： haide.wang@163.com

*通信作者：杨维仁，教授，博士生导师，E-mail： wryang@sdau.edu.cn

探讨快速准确地检测骨骼代谢状况的方法提供了新的参考。国内外有关饲粮无机磷水平对骨骼性能的研究大多集中在家禽方面，而猪上研究较少，关于无机磷对断奶仔猪骨代谢调节激素及骨代谢生化标志物的影响尚未见报道。因此，本试验以断奶仔猪为研究对象，研究饲粮添加植酸酶并梯度降低无机磷的添加量对断奶仔猪骨骼性能和骨代谢激素及生化标志物的影响，为研究猪骨骼代谢提供新的指标参考，并为生产中应用植酸酶替代无机磷提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

植酸酶，酶活性为 6 000 U/g，北京昕大洋科技发展有限公司提供；饲料级磷酸氢钙（$CaHPO_4$），磷含量 16.36%，钙含量 20.92%。

1.2 试验设计

试验选用（40±2）日龄、初始体重[（9.12±0.29） kg]相近、健康状况良好的“杜×长×大”三元杂交断奶仔猪 192 头，随机分为 6 组，每组 4 个重复，每个重复 8 头。各组猪初始体重差异不显著（P>0.05）。组 1 为对照组，饲喂基础饲粮；组 2~6 为试验组，分别在基础饲粮中添加 750 U/kg 的植酸酶，无机磷添加量分别为对照组的 100%、75%、50%、25%和 0。

1.3 试验饲粮

基础饲粮参考 NRC（1998）[7]10~20 kg 猪营养需要量配制，其组成及营养水平见表 1。饲粮钙、磷含量按试验要求调整，各组饲粮矿物质及植酸酶添加水平见表 2。

1.4 饲养管理

试验猪在同一圈舍内统一饲养管理，试验期间控制舍内温度（21±3） ℃及相对湿度（80±3）%。预试期 7 d，正试期 35 d。试验猪自由采食饮水。免疫、消毒、卫生等按猪场常规程序进行。试验地点为山东临沂良种猪繁育场。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels[2)]	含量 Content
玉米 Corn	59.54	粗蛋白质 CP	19.50
面粉 Flour	7.50	粗纤维 CF	2.83
大豆粕 Soybean meal	7.00	粗脂肪 EE	5.49
酵母 Yeast	1.25	代谢能 ME/(MJ/kg)	13.66
发酵豆粕 Fermented soybean meal	15.00	赖氨酸 Lys	1.25
白砂糖 White sugar	2.50	蛋氨酸 Met	0.53
豆油 Soybean oil	2.50	苏氨酸 Thr	0.84
甲酸钙 Calcium formate	0.61	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+ Cys	0.78
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.59	钙 Ca	0.70
食盐 NaCl	0.30	总磷 TP	0.60

L-赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys•HCl	0.35	非植酸磷 NPP	0.12
预混料 Premix[1)]	1.00		
沸石粉 Zeolite powder	0.86		
合计 Total	100.00		

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：VA 8 000 IU，VD_3 3 000 IU，VK_3 2.00 mg，VB_1 1.50 mg，VB_2 6.00 mg，VB_6 2.20 mg，VB_{12} 0.04 mg，泛酸 pantothenic acid 14.00 mg，烟酸 nicotinic acid 45.00 mg，生物素 biotin 0.15 mg，叶酸 folic acid 1.20 mg，Mn 40.00 mg，Fe 120.00 mg，Cu 10.00 mg，Zn 130.00 mg，Se 0.30 mg，I 0.50 mg。

[2)]营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

表 2 试验饲粮矿物质及植酸酶添加水平

Table 2 Mineral composition and phytase supplementation level of experimental diets

组别 Groups	植酸酶 Phytase/（U/kg）	磷酸氢钙 $CaHPO_4$/(g/kg)	总磷 TP/(g/kg)*	钙磷比 Ca/P	非植酸磷 Non-phytate P/(g/kg)*
1		15.94	6.00	1.18	3.30
2	750	15.94	6.03	1.17	3.31
3	750	11.92	5.48	1.32	2.79
4	750	7.90	4.90	1.44	2.21
5	750	4.07	4.40	1.57	1.70
6	750		3.90	1.83	1.21

实测值。 Measured values.

1.5 测定指标及方法

1.5.1 骨骼指标

于试验第 35 天，从每个重复中选取 1 头中等体重、健康的仔猪屠宰，取其右侧后腿第 4 跖骨、胫骨和第 10 肋骨并称重。骨灰分含量测定按常规方法[8]进行。骨灰分中钙含量采用高锰酸钾滴定法测定；总磷含量采用钼黄比色法（WFJ－7200 分光光度计）测定，植酸磷含量采用三氯乙酸法[8]测定。

1.5.2 血清生化指标

试验第 34 天早饲前，每个重复选取 1 头最接近平均体重的猪，前腔静脉采血 20 mL，3 000 r/min 离心取上层血清－20 ℃保存备用。用双抗体夹心法测定猪甲状旁腺素（PTH）、猪降钙素（CT）、Ⅰ型胶原 C 端肽（CTX-Ⅰ）、骨桥蛋白（OPN）、骨钙蛋白（BGP）、成纤维细胞生长因子（FGF23）、护骨素（OPG）含量和骨特异性碱性磷酸酶（BAP）、抗酒石酸酸性磷酸酶（TRACP-5b）、1,25－二羟维生素 D_3[l,25-$(OH)_2D_3$]活性。试剂盒均购自美国 R & D 公司，酶标仪为芬兰 Labsystems Multiskan MS 生产的 352 型。

1.6 数据处理及统计分析

数据采用 SAS 9.1 统计软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），差异显著性采用 Duncan 氏法进行多重比较（$P<0.05$ 者为差异显著），对不同无机磷添加水平的处理效应进行线性和二次回归分析。

2 结果与分析

2.1 骨灰分及钙磷含量

不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨灰分及钙磷含量的影响见表3。结果表明：在加植酸酶的条件下，随无机磷添加量的降低，胫骨、跖骨以及肋骨的磷含量降低（$P<0.05$），且呈线性和二次相关（$P<0.05$）；肋骨钙及灰分含量差异不显著（$P>0.05$），胫骨和跖骨钙及灰分含量降低（$P<0.05$），且呈线性和二次相关（$P<0.05$），但无机磷水平由100%到75%，胫骨钙含量差异不显著（$P>0.05$），无机磷水平由100%到50%，跖骨钙及灰分含量差异不显著（$P>0.05$）。结果显示，骨磷含量比骨钙及灰分含量对饲粮无机磷水平的变化更为敏感。此外，组2和组3骨钙、磷及灰分含量差异不显著（$P>0.05$），组4与对照组骨灰分含量差异不显著（$P>0.05$）。

表3 不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨灰分及钙磷含量的影响

Table 3 Effects of different inorganic phosphorus levels on contents of bone ash, calcium and phosphorus of weaned piglets fed phytase supplementation diets %

组别 Groups	胫骨 Tibias			肋骨 Ribs			跖骨 Metatarsus		
	磷 P	钙 Ca	灰分 Ash	磷 P	钙 Ca	灰分 Ash	磷 P	钙 Ca	灰分 Ash
1	9.19^{a}	18.54^{a}	55.45^{ab}	9.95^{b}	20.80	53.80	10.15^{a}	21.04^{b}	56.96^{a}
2	9.32^{a}	18.28^{a}	56.61^{a}	10.36^{a}	20.07	53.87	10.15^{a}	21.57^{ab}	56.80^{a}
3	9.22^{a}	18.16^{a}	56.16^{a}	10.57^{a}	21.73	53.45	10.20^{a}	21.11^{ab}	56.18^{a}
4	8.85^{b}	17.50^{b}	52.90^{bc}	8.97^{c}	21.52	54.17	9.30^{b}	21.69^{a}	54.55^{a}
5	8.48^{c}	17.44^{b}	50.30^{c}	8.53^{d}	21.32	53.00	8.48^{c}	18.94^{c}	50.37^{b}
6	8.40^{c}	16.64^{c}	50.08^{c}	8.97^{c}	21.76	52.79	8.82^{bc}	18.74^{c}	50.17^{b}
SEM	0.11	0.30	1.03	0.13	0.90	1.14	0.16	0.20	0.89
P 值 *P*-value									
组间 Group	<0.001	0.048	<0.001	<0.001	0.665	0.842	<0.001	<0.001	<0.001
线性 Linear	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.293	0.392	<0.001	<0.001	<0.001
二次 Quadratic	<0.001	0.015	<0.001	<0.001	0.449	0.635	<0.001	<0.001	<0.001

同列数据肩标不同字母表示差异显著（$P<0.05$），相同字母或无字母表示差异不显著（$P>0.05$）。下表同。Values in the same column with different letter superscripts mean significant difference （$P<0.05$）, while with the same letter or no letter superscripts mean no significant difference （$P>0.05$）. The same as below.

骨钙磷含量为骨鲜重基础，灰分含量为脱脂干骨重基础。The contents of calcium and phosphorus were calculated on the basis of fresh weight of bone, and the ash content was calculated on the defatted weight.

2.2 骨代谢激素

不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨代谢激素的影响见表4。结果表明：在饲粮无机磷添加量为100%条件下，添加植酸酶对血清PTH、CT和FGF23含量以及$1,25\text{-}(OH)_2D_3$活性无显著影响（$P>0.05$）。在加植酸酶的条件下，降低无机磷的添加量，血清PTH含量差异不显著（$P>0.05$）；血清CT含量及$1,25\text{-}(OH)_2D_3$活性显著升高（$P<0.05$），且呈线性和二次相关（$P<0.05$）；血清FGF23含量显著降低（$P<0.05$），且呈线性和二次相关（$P<0.05$）。

组 2 与低无机磷水平加植酸酶组血清 l,25-(OH)$_2$D$_3$ 活性以及 FGF23、CT 含量均有显著差异（P<0.05），说明与骨成分相比，骨代谢激素对饲粮无机磷水平的变化更敏感。

表 4　不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨代谢激素的影响

Table 4　Effects of different inorganic phosphorus levels on bone metabolism hormones of weaned piglets fed phytase supplementation diets

组别 Groups	1,25－二羟维生素 D$_3$ l,25-(OH)$_2$D$_3$/(ng/L)	甲状旁腺素 PTH/(ng/L)	成纤维细胞生长因子 FGF23/(pg/mL)	降钙素 CT/(ng/L)
1	68.64[b]	16.35	387.38[a]	242.47[c]
2	66.89[b]	15.89	386.44[a]	238.98[c]
3	74.30[a]	16.24	368.70[b]	251.49[b]
4	75.38[a]	16.13	369.41[b]	258.71[b]
5	74.13[a]	16.30	363.38[b]	271.20[a]
6	72.73[a]	16.16	349.89[c]	274.97[a]
SEM	0.99	0.22	5.16	3.41
P 值 *P*-value				
组间 Group	<0.001	0.758	<0.001	<0.001
线性 Linear	0.030	0.391	<0.001	<0.001
二次 Quadratic	<0.001	0.507	0.002	<0.001

2.3　骨合成生化指标

不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨合成生化指标的影响见表 5。结果表明：在饲粮无机磷添加量为 100%条件下，添加植酸酶，血清 BAP 活性、OPG 含量显著升高（P<0.05）。加植酸酶条件下，降低无机磷的添加量，血清 BAP 活性及 BGP、OPG 含量显著降低（P<0.05），且呈线性和二次相关（P<0.05）。说明随着饲粮无机磷水平的降低，成骨细胞活性减弱，骨形成降低，吸收的磷更多满足机体的磷需求。无机磷水平为 75%、50%的加植酸酶组与对照组相比，血清 BAP 活性及 BGP、OPG 含量差异不显著（P>0.05）；无机磷水平为 25%、0 的加植酸酶组与对照组相比，血清 BAP 活性、BGP 含量显著降低（P<0.05），说明无机磷添加水平低于 50%（4.90 g/kg）时，骨合成作用减弱。

表 5　不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨合成生化指标的影响

Table 5　Effects of different inorganic phosphorus levels on biochemical indices of bone synthesis of weaned piglets fed phytase supplementation diets

组别 Groups	骨特异性碱性磷酸酶 BAP/(μg/L)	护骨素 OPG/(pg/mL)	骨钙蛋白 BGP/(μg/L)
1	12.04[b]	1 459.75[b]	270.83[a]
2	12.93[a]	1 518.97[a]	274.84[a]
3	12.08[b]	1 434.77[b]	273.83[a]
4	11.95[b]	1 445.61[b]	266.83[a]
5	11.28[c]	1 428.29[b]	256.07[b]
6	10.89[c]	1 435.69[b]	248.06[b]

SEM	0.21	16.98	3.08
P 值 *P*-value			
组间 Group	<0.001	<0.001	<0.001
线性 Linear	<0.001	0.014	<0.001
二次 Quadratic	<0.001	0.006	<0.001

2.4 骨吸收生化指标

不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨吸收生化指标的影响见表 6。结果表明：在饲粮无机磷添加量为 100%条件下，添加植酸酶，血清 CTX-Ⅰ、OPN 含量及 TRACP-5b 活性显著降低（$P<0.05$）。加植酸酶条件下，降低无机磷的添加量，血清 CTX-Ⅰ、OPN 含量及 TRACP-5b 活性显著升高（$P<0.05$），且呈线性和二次相关（$P<0.05$），说明饲粮无机磷水平的降低使破骨细胞活性增强，增加骨磷释放，满足机体的磷需求。组 3 与对照组相比，血清 CTX-Ⅰ、OPN 含量及 TRACP-5b 活性差异不显著（$P>0.05$），而无机磷水平为 50%、25%、0 的加植酸酶组与对照组相比则显著升高（$P<0.05$），说明无机磷添加水平低于 75%（5.48 g/kg）时，骨吸收作用增强。

表 6 不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨吸收生化指标的影响

Table 6 Effects of different inorganic phosphorus levels on biochemical indices of bone resorption in weaned piglets fed phytase supplementation diets

组别 Groups	Ⅰ型胶原 C 端肽 CTX-Ⅰ /(nmol/L)	骨桥蛋白 OPN/(μg/L)	抗酒石酸酸性磷酸酶 TRACP-5b/(ng/L)
1	8.68[b]	34.46[c]	78.94[c]
2	8.05[b]	32.71[d]	75.14[c]
3	8.23[b]	35.84[c]	76.09[c]
4	9.85[a]	44.03[b]	85.66[b]
5	10.01[a]	43.23[b]	92.89[a]
6	10.43[a]	46.10[a]	91.29[a]
SEM	0.17	0.54	0.80
P 值 *P*-value			
组间 Group	<0.001	<0.001	<0.001
线性 Linear	0.001	<0.001	<0.001
二次 Quadratic	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨 论

3.1 不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨灰分及钙磷含量的影响

植酸酶可以释放畜禽饲料中植酸形式的磷元素，提高饲粮钙、磷等矿物元素的表观消化率，促进这些矿物元素在骨骼的沉积，提高骨灰分含量[9-11]；而且植酸酶释放植酸磷的作用，在高磷条件下效果不明显，而在低磷条件下更显著[12]。本研究中，在无机磷添加量为 100%（6.00 g/kg）条件下，添加植酸酶胫骨、肋骨、跖骨钙磷及灰分含量差异不显著。说

明 6.00 g/kg 磷水平能够满足断奶仔猪的需求。

猪的骨生长主要发生在 12 周龄，并伴随着肌肉及体重的快速增加[13-14]，获得最佳骨骼性能时断奶仔猪饲粮无机磷的添加水平比获得最佳生产性能要高[15-16]。Varley 等[17]报道，钙磷比一定的条件下，随饲粮磷水平提高，骨骼钙磷及灰分含量增加。本试验中，在加植酸酶的条件下，随着饲粮无机磷水平的降低，跖骨和胫骨钙磷及灰分含量降低且呈线性和二次相关，李佳等[18]在生长育肥猪的试验中也得到类似结论。研究发现骨密度与骨灰分含量高度正相关[19-20]，饲粮无机磷水平降低会影响断奶仔猪的骨骼性能。本研究中，组 3 与对照组和组 2 相比，骨骼钙、磷、灰分含量差异不显著；组 4 与对照组骨灰分含量差异不显著，但骨磷含量显著降低，与组 2 相比，骨磷及胫骨灰分含量显著降低。所以，植酸酶可以替代 25%（0.52 g/kg）的无机磷添加量而不影响骨骼成分含量。

3.2　不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨代谢激素的影响

本试验条件下，无机磷添加量及植酸酶对血清 PTH 含量无显著影响，这可能是因为 PTH 的分泌主要受血钙浓度控制[21]，本课题组前期试验各组间血钙浓度差异不显著[22]，故血清 PTH 的含量差异不显著。加植酸酶条件下，血清 CT、l,25-$(OH)_2D_3$ 活性随饲粮无机磷水平降低升高且呈线性和二次相关，75%、50%、25%、0 无机磷水平组间血清 l,25-$(OH)_2D_3$ 活性差异不显著，但与对照组相比显著升高。低磷刺激机体肾脏分泌 l,25-$(OH)_2D_3$，其能增加破骨细胞数量并提高对 PTH 的反应性，促进骨质溶解；另外，l,25-$(OH)_2D_3$ 也能促进成骨细胞对钙的转运，控制骨的生成和钙化作用，使骨的代谢和更新加快[21]。但 CT 能抑制破骨细胞的生成和活动，其血清含量随饲粮无机磷水平降低而升高可能是因为饲粮钙水平不变，钙的吸收率增大，导致血钙升高，刺激机体分泌 CT，也可能是因为破骨作用增强，为了维持钙磷代谢平衡，CT 代偿性地分泌增加。FGF23 的主要作用是作为排磷因子以及 l,25-$(OH)_2D_3$ 的反向调节激素[23]，减少 l,25-$(OH)_2D_3$ 的生成，同时使 l,25-$(OH)_2D_3$ 在肾脏近曲小管被灭活[24]。过量的 FGF23 可以通过抑制可溶性转运蛋白家族 34 成员引起低磷血症。本研究中，血清 FGF23 含量随饲粮无机磷水平降低显著降低可以减少磷排泄，同时减弱对 l,25-$(OH)_2D_3$ 的抑制，促进肾磷的重吸收及骨骼钙磷动员。本研究结果表明，低磷组与对照组血清骨代谢激素 CT、FGF23 含量及 l,25-$(OH)_2D_3$ 活性均差异显著，说明骨代谢激素对饲粮磷水平变化非常敏感。

3.3　不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨合成生化指标的影响

BAP 是血清碱性磷酸酶同工酶之一，由成骨细胞合成分泌的特异性产物，是成骨细胞表面的一种糖蛋白。BAP 在成骨过程中解除焦磷酸盐对骨矿形成的抑制作用，促进骨形成，是评价全身性骨形成和骨转换最好的酶指标之一[25]。BGP 在 1,25-$(OH)_2D_3$ 调控基质矿化阶段由成骨细胞产生，约占骨组织中非胶原骨蛋白总量的 25%，是骨中最丰富的非胶原骨蛋白之一。BGP 是唯一在矿化组织中大量存在的骨代谢标志物，因此是骨形成的最直接反映[26]，其主要功能是维持骨的正常矿化速率，抑制异常的羟磷灰石结晶的形成，抑制生长软骨矿化

的速度，促进骨组织矿物质沉积的正常钙化过程。成骨细胞合成的 BGP 大约有 20%释放入血，血清 BGP 含量和骨组织 BGP 含量呈正相关，因此血中的 BGP 含量可反映骨组织中 BGP 的合成状况。OPG/RANKL(核因子κB 受体活化因子配体)/RANK(核因子κB 受体活化因子)系统是近年来骨科研究领域中的重大突破，OPG 是 RANKL 的假性受体，能抑制前体溶骨细胞分化和成熟溶骨细胞形成骨吸收陷窝，并诱导溶骨细胞凋亡，并可拮抗促骨吸收因子如 l,25-$(OH)_2D_3$、前列腺素 E2 和 PTH 等引起的骨吸收[27]。本研究中，加植酸酶条件下，随无机磷添加量的降低，血清 BAP 活性及 BGP、OPG 含量降低且呈线性和二次相关，缺少 OPG 的抑制，前体溶骨细胞分化成成熟溶骨细胞，形成骨吸收陷窝，骨吸收作用增强。血清 BAP 活性、BGP 含量降低，焦磷酸盐对骨矿形成的抑制作用增强，骨组织矿物质沉积的正常钙化减弱，骨形成减弱。然而，在人类医学领域，骨质疏松及佝偻病患者的血清 BAP 活性要高于正常人水平，这可能是因为本研究所用断奶仔猪处于生长阶段，本身骨形成作用大于骨吸收，饲粮磷水平的降低只是降低了仔猪的骨骼合成，并没有达到引起骨代谢疾病的程度，也可能是因为其它未知原因，需要进一步研究确认。

3.4　不同无机磷水平饲粮添加植酸酶对断奶仔猪骨吸收生化指标的影响

TRACP5b 是破骨细胞分泌的骨转换生化标志物，它能反映骨吸收的状态，可以通过检测其血液浓度来实现骨吸收总量的检测[28]。CTX-Ⅰ是骨吸收时破骨细胞降解Ⅰ型胶原释放出的特殊序列分解片段，在血清中生理变异小，稳定性好，可以特异的反映骨转换骨吸收[29]。OPN 对于破骨细胞的生理功能非常重要，它可促进破骨细胞与骨基质的黏附，诱导破骨细胞的破骨过程，为骨吸收创造条件，可能是骨质疏松症发病机制中的重要环节。OPN 不仅能抑制骨矿晶体的生成和增殖，而且促进破骨细胞的复原和聚集，在骨吸收中起到重要作用[30-31]。在本研究中，随饲粮无机磷添加量的降低，机体磷摄入量减少，血清磷浓度降低，OPN 分泌增加，抑制骨矿晶体的生成和增殖，促进破骨细胞的复原和聚集，破骨细胞活跃，血液中 TRACP5b、CTX-Ⅰ活性增加。

综上所述，组 4 与对照组相比，骨灰分含量差异不显著，然而骨吸收生化指标显著升高，说明机体已接近磷缺乏状态，容易造成磷缺乏。组 3 与对照组相比，骨钙磷及灰分、骨合成生化指标、骨吸收生化指标差异不显著，故添加植酸酶可以替代 25%（0.52 g/kg）的无机磷添加量而不影响断奶仔猪骨骼健康和钙磷代谢。

4　结　论

① 在加植酸酶的条件下，胫骨和跖骨的钙磷及灰分含量、肋骨磷含量与无机磷的添加量呈线性和二次相关。

② 骨代谢激素及骨代谢生化指标能准确反映骨代谢状况，且比常规指标更敏感。

③ 综合各项指标，在断奶仔猪饲粮中添加 750 U/kg 的植酸酶可以替代 25%（0.52 g/kg）的无机磷添加量。

参考文献：

[1] SHAPIRO R,HEANNEY R P.Co-dependence of calcium and phosphorus for growth and bone development under conditions of varying deficiency[J].Bone,2003,32(5):532–540.
[2] TILMAN D,FARGIONE J,WOLFF B,et al.Forecasting agriculturally driven global environmental change[J].Science,2001,292(5515):281–284.
[3] 靳波,赵海忠.猪腿蹄病的研究进展及防治[J].湖北畜牧兽医,2006(2):24–26.
[4] 于明,边连全,程波.低磷日粮中添加植酸酶对生长猪生产性能及饲料中磷、钙和蛋白质表观消化率的影响[J].畜牧与兽医,2013,45(2):32–36.
[5] 闫俊浩,黄海滨,禚梅,等.植酸酶和磷酸氢钙对育肥猪生长性能和养分消化率的影响[J].畜牧与兽医,2009,41(4):33–36.
[6] MELTON Ⅲ L J,ATKINSON E J,O'CONNOR M K,et al.Determinants of bone loss from the femoral neck in women of different ages[J].Journal of Bone and Mineral Research,2000,15(1):24–31.
[7] 李长忠,张宏福.NRC(1998)第十版猪营养需要量表[J].国外畜牧学:饲料,1998(3):37–48.
[8] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].2 版.北京:中国农业大学出版社,2003.
[9] 戚广州.不同剂量和剂型植酸酶对肉仔鸡生产性能、养分利用率影响的研究[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2009.
[10] VARLEY P F,CALLAN J J,O'DO HERTY J V.Effect of phosphorus level and phytase inclusion on the performance,bone mineral concentration,apparent nutrient digestibility,and on mineral and nitrogen utilisation in finisher pigs[J].Irish Journal of Agricultural and Food Research,2010,49(2):141–152.
[11] KUMAR V,SINHA A K,MAKKAR H P S,et al.Phytate and phytase in fish nutrition[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2012,96(3):335–364.
[12] LEI X G,STAHL C H.Nutritional benefits of phytase and dietary determinants of its efficacy[J].Journal of Applied Animal Research,2000,17(1):97–112.
[13] BROWN R G,AESCHBACHER H U,FUNK D.Connective tissue metabolism in swine. Ⅳ .Growth dependent changes in the composition of long bones in female swine[J].Growth,1972,36(4):389–406.
[14] TANCK E,HOMMINGA J,VAN LENTHE G H,et al.Increase in bone volume fraction precedes architectural adaptation in growing bone[J].Bone,2001,28(6):650–654.
[15] CROMWELL G L,HAYS V W,SCHERER C W,et al.Effects of dietary calcium and phosphorus on performance and carcass,metacarpal and turbinate characteristics of swine[J].Journal of Animal Science,1972,34(5):746–751.
[16] VARLEY P F,SWEENEY T,RYAN M T,et al.The effect of phosphorus restriction during the weaner-grower phase on compensatory growth,serum osteocalcin and bone mineralization in gilts[J].Livestock Science,2011,135(2/3):282–288.
[17] VARLEY P F,CALLAN J J,O’DOHERTY J V.Effect of dietary phosphorus and calcium level and phytase addition on performance,bone parameters,apparent nutrient digestibility,mineral

and nitrogen utilization of weaner pigs and the subsequent effect on finisher pig bone parameters[J].Animal Feed Science and Technology,2011,165(3/4):201–209.

[18] 李佳,解鹏,吴东波,等.日粮不同磷水平和钙磷比对生长肥育猪生产性能的影响[J].兽药与饲料添加剂,2006,11(4):3–4.

[19] MITCHELL A D,CONWAY J M,SCHOLZ A M.Incremental changes in total and regional body composition of growing pigs measured by dual-energy x-ray absorptiometry[J].Growth,Development,and Aging:GDA,1995,60(2):95–105.

[20] RYAN W F,LYNCH P B,O'DOHERTY J V.Effect of dietary phosphorus on the development of bone mineral density of pigs assessed using dual energy X-ray absorptiometry[J].Livestock Science,2011,137(1/2/3):101–107.

[21] 杨秀平.动物生理学[M].北京:高等教育出版社,2002.

[22] 王志恒,杨维仁,郭宝林,等.不同无机磷水平日粮添加植酸酶对保育猪生长性能、血清生化指标及养分表观消化率的影响[J].畜牧兽医学报,2015,46(10):1891–1898.

[23] KUROSU H,OGAWA Y,MIYOSHI M,et al.Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho[J].Journal of Biological Chemistry,2006,281(10):6120–6123.

[24] SHIMADA T,MIZUTANI S,MUTO T,et al.Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of American,2001,98(11):6500–6505.

[25] PLEBANI M,BERNARDI D,ZANINOTTO M,et al.New and traditional serum markers of bone metabolism in the detection of skeletal metastases[J].Clinical Biochemistry,1996,29(1):67–72.

[26] PEICHL P,GRIESMACHER A,MÜLLER M M,et al.Serum osteocalcin and urinary crosslaps are suitable markers of bone turnover in response to short-term hormone replacement therapy[J].Gynecological Endocrinology,2000,14(5):374–381.

[27] KHOSLA S.Minireview:the OPG/RANKL/RANK system[J].Endocrinology,2001,142(12):5050–5055.

[28] SHIDARA K,INABA M.Bone metabolic marker for osteoporosis[J].Nihon Rinsho.Japanese Journal of Clinical Medicine,2009,67(5):927–931.

[29] KUČUKALIĆ-SELIMOVIĆ E,VALJEVAC A,HADŽOVIĆ-DŽUVO A,et al.Evaluation of bone remodelling parameters after one year treatment with alendronate in postmenopausal women with osteoporosis[J].Bosnian Journal of Basic Medical Sciences,2011,11(1):41–45.

[30] SHAPSES S A,CIFUENTES M,SPEVAK L,et al.Osteopontin facilitates bone resorption,decreasing bone mineral crystallinity and content during calcium deficiency[J].Calcified Tissue International,2003,73(1):86–92.

[31] KITAHARA K,ISHIJIMA M,RITTLING S R,et al.Osteopontin deficiency induces parathyroid hormone enhancement of cortical bone formation[J].Endocrinology,2003,144(5):2132–2140.

Effects of Different Inorganic Phosphorus Levels on Bone Calcium and Phosphorus Metabolism of Weaned Piglets Fed Phytase Supplementation Diets

WANG Dehai[1] YANG Weiren[1*] GUO Baolin[2] ZHANG Chongyu[1] GUO Wenwen[1]
WANG Zhiheng[1] ZHANG Tianrong[3] ZHAO Lifang[2]
(1. *College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an* 271018, *China;* 2. *Beijing Smistyle Sci.&Tech. Development Co., Ltd., Beijing* 100081, *China*; 3. *Linyi Xincheng Jinluo Animal Husbandry Co., Ltd., Linyi* 276402, *China)*

Abstract: The objective of this study was to estimate the influence of different inorganic phosphorus level diets supplemented with phytase on bone calcium and phosphorus metabolism of weaned piglets. A total of 192 healthy post-weaned piglets (Duroc×Landrace×Largewhite) with an average body weight of (9.12±0.29) kg were randomly divided into 6 groups with 4 replicates in each group, and 8 piglets per replicate. Control group was fed a basal diet （phosphorus content was 6.00 g/kg）, experimental groups were fed diets supplemented with 750 U/kg phytase, and inorganic phosphorus addition level was100%, 75%, 50%, 25% and 0 (calcium-phosphorus ratio was 1.17 to 1.79) of the control group, respectively. The experiment lasted for 35 d. The results showed that with phytase supplementation, the dietary inorganic phosphorus level reduction resulted in a linear and quadratic decrease in contents of tibia and metatarsal bone calcium, phosphorus and ash and the rib bone phosphorus contents (P<0.05), and got the same effects on contents of serum fibroblast growth factors (FGF23), biochemical indices of bone synthesis such as bone gla protein (BGP) and osteoprotegerin (OPG) contents, and bone-specific alkaline phosphatase (BAP) activity (P<0.05); it also resulted in a linear and quadratic increase in serum calcitonin (CT) content, biochemical indices of bone resorption such as contents of C-terminal telopeptide of type Ⅰ collagen (CTX-Ⅰ) and osteopontin (OPN), and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP5b) activity, as well as 1,25-dihydroxyvitamin D [l,25-$(OH)_2D_3$] activity (P<0.05). Compared with control group, 75% inorganic phosphorus level + phytase group had no significant difference on contents of bone calcium, phosphorus and ash, and biochemical indices of bone synthesis and resorption (P>0.05); 50% inorganic phosphorus level + phytase group had no significant difference on bone ash content and biochemical indices of bone synthesis (P>0.05), but got significantly higher biochemical indices of bone resorption (P<0.05). Meanwhile, these two groups above both had significantly higher serum l,25-$(OH)_2D_3$ activity and CT content (P<0.05), but a significantly lower FGF23 content compared with control group (P<0.05). In summary, with phytase supplementation in diets, contents of calcium, phosphorus and ash in tibias and metatarsus and phosphorus in ribs are linear and quadratic correlated with inorganic phosphorus addition level. Hormones and biochemical indices of bone metabolism can accurately reflect the situation of bone metabolism, and are more sensitive than conventional indicators. Dietary phytase supplementation for weaned piglets can replace 25% (0.52 g/kg) inorganic phosphorus.

Key words: weaned piglets; phosphorus; phytase; bone; bone metabolism biochemical indices

---

*Corresponding author, professor, E-mail: wryang@sdau.edu.cn (责任编辑　田艳明)